

Cytomegalovirus infections in renal transplantation : study in a rat model

Citation for published version (APA):

Bruning, J. H. (1988). Cytomegalovirus infections in renal transplantation : study in a rat model. Maastricht: Rijksuniversiteit Limburg.

Document status and date:

Published: 01/01/1988

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

CHAPTER XII

SUMMARY AND CONCLUSIONS

The main findings of this study are summarized in the following seven points:

1. The rat cytomegalovirus resembles closely the human cytomegalovirus in biological behaviour; as in humans it seldom causes overt disease except in severely immunocompromised rats (Chapter V). Immunohistochemically the virus and its related antigens (Chapter IV) can (up to now) only be detected in the acute phase of infection. Latently infected cells are either not recognized by the monoclonal antibodies that detect virus related antigens in the acute phase of infection (Chapter V and VI), or the density of these "latent" antigens is so extremely low that an incidentally staining (IPA) cell is overlooked or staining is considered nonspecific.
2. In the rat, predominantly cells of mesodermal origin appear to be infected in the acute phase of infection. Furthermore, many infected cells detected in this phase of infection are considered to have phagocytic and/or antigen presenting functions (macrophages, monocytes, endothelial cells, Kupffer cells and probably polymorphonuclear cells; Chapter V). Many reports indicate that this also may apply to the human situation (Chapter II).
3. Transmission of infection via blood or its products appears to be possible only when the blood is obtained from acutely infected rats, indicating that blood borne cells are either abortively infected, or, if latently infected, home selectively to (yet undetermined) sites and do not recirculate (Chapter VIII). In man, it appears that nucleated cells in blood or blood products obtained from blood banks may transfer infection at least 20% of the time, and thus contain (infective) virus (Chapter II). Whether or not this reflects the incidence of acute reactivation infection within the blood donors is, however, a subject for further investigation. The culture of CMV from freshly obtained donor blood has, on the other hand, seldom been successful in various large epidemiological studies, indicating that the virus, if present, is in a latent form (Chapter II).
4. At least in the rat, upon infection with RCMV, kidneys become (latently) infected in 100%, and with these kidneys infection can be readily transferred (Chapter VII). There are strong epidemiological indications that this is also the case in the human situation; at least 60-80% of cases in which a seronegative patient receives a renal allograft from a seropositive donor an infection (seroconversion and/or viral shedding) occurs (Chapter II).
5. The main factors that may induce reactivation of latent RCMV are immunosuppression, alloimmune responses in form of Graft versus Host reactions, and probably aspecific inflammatory reactions brought about by the transplantation procedure itself (Chapter IX). However, the transplantation procedure may also induce reactivation via its immunosuppressive effects

as was described for the human situation (anaesthesia and muscle relaxants; Chapter II). Also in the clinical situation, e.g. with bone marrow transplantation in man, many investigators have found strong evidence that the main factors, GvH and immunosuppression, were responsible for the occurrence of active CMV infections (Chapter II).

6. In the rat, as in man, the immunosuppressive regimens, administered in order to avoid allograft rejection have a definite influence on the reactivation of latent RCMV, and thus in the transfer of infection via (latently infected) renal transplants (Chapter X).
7. RCMV infections have no effect on acute or chronic rejection episodes and probably do not influence renal allograft survival (Chapter XI). In man, as was discussed in Chapter II, this relationship is still controversial.

The last conclusion, however, is still speculative since many variables that may have their influence on the final outcome remain to be tested.

- In the first place it remains to be determined whether reinfections with RCMV play a role in allograft survival. As was outlined by Grundy *et al.* (Lancet 1987; 11: 996) many clinical and experimental data indicate that interstitial CMV pneumonia is a immunopathological phenomenon, brought about by immunological (cellular?) responses to CMV infection. It might well be that there is an analogous mechanism exists in the case of renal allograft transplantation. If so, it would be necessary to induce acute reactivation infection or reinfection from an exogenous source (infected renal allograft or inoculation of infective virus) to bring about immunopathological mechanisms leading to diminished renal allograft survival.

Strong evidence for such a mechanism is rendered by the epidemiological study of Rubin *et al.*, 1985 (Chapter II, ref. 5).

They found a positive effect on renal allograft survival with secondary CMV infections when anti lymphocyte-globulin was administered, an effect that was not seen in recipients with either primary infections (where it had an adverse effect) or with no infection. This might indicate the existence of cellular mechanisms towards the renal allograft, leading to diminished graft survival, an effect that is abolished by administration of anti-lymphocyte serum.

- Furthermore it might well be that effects of RCMV infection on renal allograft survival are only significant in the long term, while the study here presented was designed to investigate only the short term effects.

- Another variable that was not investigated is the effect of reinfection with a RCMV-strain with distinct antigenic determinants. In man, it is well

known that HCMV has some inverted sequences that may result in four or even eight genomic isomers. These isomers have immunological differences and these differences may thus occur within a clone of one strain.

Furthermore there are many different strains of HCMV with much larger (immunological) differences between one and another than between the various isomers of one strain.

An immunological adverse effect on renal allograft survival might be effected by reinfection with a strain with only slight immunological differences as compared to the (latent) CMV of primary infection.

To investigate this possibility various immunological distinct strains of RCMV are required.

- Another variable to be investigated is the influence of donor/recipient rat strain combination or, in other words, the effect of match/mismatch of Major and Minor transplantation antigens in combination with CMV infections. In man there is much controversy over this matter (Chapter II).

- Furthermore the effect of superinfections with other microorganisms brought about by the immunosuppressive effects of CMV infection might have an effect on renal allograft function and survival, as well as patient survival. In the rat model this can also be investigated.

- Finally, the effect of origin of the renal allograft (cadaveric versus living/related), combined with CMV infection is frequently found to be of influence on allograft survival in man, with allografts of cadaveric origin being associated with diminished graft survival (Chapter II). In the rat model employed in this study, the warm and cold ischaemia times were limited to the minimum. It might well be that manipulation of these variables would result in diminished allograft function and survival, especially when combined with (acute) RCMV-infection. This possibility certainly should be considered in further studies.

When all the variables mentioned are tested for their effects on renal allograft survival in the rat, the conclusions, despite the close resemblance to human situations, should only be extrapolated to man with great care.

However the results will yield more insight into the possible pathogenic mechanisms underlying CMV-related disease and its effects on renal allograft survival.

SAMENVATTING

Epidemiologisch onderzoek naar het voorkomen van antilichamen tegen het cytomegalovirus in de bevolking van westerse landen heeft aangetoond dat bij 60-90% van de onderzochten deze antilichamen aanwezig zijn. Cytomegalovirus infecties komen blijkbaar wijd verbreid voor onder de normale bevolking.

Het cytomegalovirus behoort tot de groep van de Herpesvirussen en de infectie veroorzaakt door dit virus vertoont het voor deze groep van virussen kenmerkende patroon: na een primaire infectie persisteert het virus in de gastheer in een latente vorm. Door nog veelal onbegrepen (onbekende) oorzaken kan het virus vanuit de latente vorm reactiveren en een zogenoemde secundaire infectie veroorzaken.

De mechanismen die een rol spelen bij latentie en reactivatie zijn nog onvolledig begrepen, maar er zijn vele aanwijzingen dat een intact afweersysteem van de gastheer en met name het vermogen een goede specifieke afweer tegen het Cytomegalovirus op te bouwen, belangrijk zijn bij het doen ontstaan en onderhouden van latentie.

Het overgrote deel van primaire en secundaire infecties in een gezonde gastheer verlopen ongemerkt. Bij gestoorde afweer echter, kunnen ernstige en soms dodelijke infecties optreden met o.a. ontsteking van de longen en lever.

Sinds de afstotingsreactie, die optreedt na transplantatie van lichaamsvreemde weefsels en organen, effectief onderdrukt kan worden door het gebruik van immuunsuppressieve middelen, is orgaantransplantatie een mogelijke behandeling geworden bij orgaanfunctieverlies. Het voorbeeld hiervan is de niertransplantatie die door de effectieve immuunsuppressie een grote vlucht heeft genomen. Deze immuunsuppressieve middelen echter, onderdrukken niet uitsluitend de specifieke afstotingsreactie; de gehele immunologische afweer van de gastheer wordt verminderd, zo ook de afweer tegen diverse ziekteverwekkers. Het is met name in deze patiënten waar het cytomegalovirus ernstige infecties kan veroorzaken.

Primaire infecties bij ontvangers van een niertransplantaat kunnen worden overgebracht met bloedtransfusies; in de meeste gevallen echter is de donornier de bron van zowel primaire als secundaire infecties. Ook kan door de medicamenteuze onderdrukking van het immuunsysteem latent, virus aanwezig in de getransplanteerde patiënt, reactiveren, en een secundaire infectie veroorzaken.

Primaire en secundaire cytomegalovirus infecties bij immuun-gesupprimeerde transplantatie patiënten neigen tot een ernstig, soms levensbedreigend klinisch beloop. Deze infecties zijn dan ook niet zelden de reden voor vermindering van de immuun-suppressieve therapie. Vaak ziet men in deze groep van patiënten dan ook toename van de afstotingsreacties.

De vraag is evenwel of de toename van de afstotingsreactie een direct gevolg is van de cytomegalovirus infectie of optreedt door de vermindering van de immuno-suppressieve therapie. Deze vraag heeft vele onderzoekers en klinici beziggehouden doch de gegevens verkregen door klinisch onderzoek laten een duidelijke beantwoording hiervan niet toe.

Het doel van de experimenten beschreven in dit proefschrift was met name om die relatie te bestuderen in een goed omschreven proefdiermodel.

In dit model is het mogelijk de factoren welke bij de mens van invloed kunnen zijn op het ontstaan van CMV-gerelateerde ziekte en niertransplantaatoverleving, afzonderlijk te bestuderen.

De combinatie van de beschikbaarheid van een rat cytomegalovirus dat sterk lijkt op het humaan cytomegalovirus, en een ratmodel, welke geschikt is voor de bestudering van niertransplantatie problematiek, verschaft een goede mogelijkheid de mogelijke samenhang tussen cytomegalovirus infecties en niertransplantaatoverleving te bestuderen.

De belangrijkste bevindingen en conclusies van deze studie zijn:

1. Het rat cytomegalovirus is in biologische eigenschappen in hoge mate vergelijkbaar met het humaan cytomegalovirus. Het rat cytomegalovirus veroorzaakt bij gezonde ratten zelden ziekteverschijnselen. Dit in tegenstelling tot het veel ernstiger infectie- en ziekteverloop bij immuun-gesupprimeerde dieren (Hoofdstuk II, IV en V).
2. De cellen welke worden geïnfecteerd zijn voornamelijk van mesodermale oorsprong; vaak betreffen het cellen welke een fagocyterende eigenschap bezitten, en een functie hebben in het a-specifieke immuunsysteem (Hoofdstuk IV en V).
3. Via bloedcellen blijkt de infectie alleen dan overdraagbaar wanneer deze cellen komen van een acuut geïnfecteerd dier (Hoofdstuk VIII). Ook uit het immunohistochemisch onderzoek blijkt dat bloedgedragen cellen frequent geïnfecteerd zijn, doch slechts in de acute fase van infectie (Hoofdstuk IV).
4. De infectie kan gemakkelijk overgedragen worden met niertransplantaten zowel van acuut als latent geïnfecteerde donor ratten. Deze nieren blijken in 100% van de gevallen (latent) virus te bevatten (Hoofdstuk VII).

5. De belangrijkste factoren welke reactivatie van latent RCMV bewerkstelligen zijn immuunsuppressie, allogene stimulatie en waarschijnlijk a-specifieke ontstekingsreacties (Hoofdstuk VII, IX en X).
6. De vorm en diepte van immuunsuppressie blijken een belangrijke factor te zijn in het tot stand komen van reactivatie van latent RCMV, en daarmee in de overdracht van infectie met een orgaantransplantaat (Hoofdstuk X). De mate waarin deze immuunsuppressie "graft versus host" reacties onderdrukt is daarbij waarschijnlijk bepalend.
7. De met het rat-model verkregen resultaten wijzen erop dat in dit model een cytomegalovirus infectie géén invloed heeft op een acuut of chronisch afstotingsproces, en daarmee van geen invloed is op de niertransplantaat-overleving.

Deze laatste conclusie echter moet als voorlopig worden beschouwd, aangezien een aantal, mogelijk van belang zijnde variabelen, niet in het onderzoek zijn betrokken.

Het in dit proefschrift beschreven onderzoek is verricht met behulp van een rat-model. Interpretatie van de resultaten naar de humane situatie dient derhalve met grote voorzichtigheid te geschieden. Wel kan echter worden opgemerkt dat een aantal klinische waarnemingen met de getrokken conclusies in overeenstemming lijken te zijn. Verder zijn niet alle mogelijkheden die het rat-model biedt, ten volle onderzocht. In dit licht dient met name de laatste conclusie beschouwd te worden.